

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年 3 月 31 日 (31.03.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/028646 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C12N 15/09, 1/19, 1/21, 5/10 (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/014308
- (22) 国際出願日: 2004 年 9 月 22 日 (22.09.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2003-330569 2003 年 9 月 22 日 (22.09.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 出村 拓 (DE-MURA, Taku) [JP/JP]; 〒2300074 神奈川県横浜市鶴見区北寺尾 4-9-7 B-106 Kanagawa (JP). 福田 裕穂 (FUKUDA, Hiroo) [JP/JP]; 〒1350044 東京都江東区越中島 1-3 越中島住宅 17-407 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI, Yusuke et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門 4 丁目 3 番 20 号 神谷町 MT ビル 19 階 Tokyo (JP).
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: EFFICIENT METHOD OF PREPARING DNA INVERTED REPEAT STRUCTURE

(54) 発明の名称: 効率的な DNA 逆位反復構造の調製方法

(57) Abstract: In the conventional technology of preparing a chimera gene having an inverted repeat structure of target sequence, a target sequence is inserted in two sites on a vector in the sense direction and the antisense direction, so that independent restriction enzyme recognizing sequences must be provided at not only insertion sites on the vector but also both ends of the target sequence, resulting in complications. In the invention, a chimera gene having an inverted repeat structure is prepared by providing a cassette construct having an arbitrary adaptor sequence and an inverted adaptor sequence arranged with an arbitrary spacer sequence interposed therebetween or preparing a plasmid vector having such a cassette construct incorporated therein; bonding a target sequence to one or both ends of the cassette construct, or inserting a target sequence in one end of the cassette construct on the plasmid vector; and thereafter carrying out PCR.

/続葉有/



WO 2005/028646 A1



(57) 要約:

従来の標的配列の逆位反復構造をもつキメラ遺伝子の作成技術では、ベクター上の２箇所に標的配列をセンス方向とアンチセンス方向に挿入するため、ベクター上の挿入部位にも、標的配列両末端にも、独立した制限酵素認識配列を設けなければならず煩雑である。

任意のスペーサー配列を挟んで任意のアダプター配列及び逆位アダプター配列が配置したカセットコンストラクト、又はカセットコンストラクトを組み込んだプラスミドベクターを作製し、上記カセットコンストラクトの一方又は両方の末端に標的配列を結合させた後か、上記プラスミドベクター上のカセットコンストラクトの一方の末端に標的配列を挿入した後に、ＰＣＲを行うことで、逆位反復構造をもつキメラ遺伝子を調製する。